

Effect of Nerve Growth Factor on Anxiety-like Behaviors Induced by Forced Swim Stress in Rats

Hassan Azhdari Zarmehri¹,
Hosein Khosravi²,
Ehsan Mohebi³,
Mohammad Shafi Mojadadi⁴,
Mohammad Mohammad-Zadeh⁴

¹ Assistant Professor, Neuroscience Research Center, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

² Student in Laboratory Science, Student Research Committee, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

³ Assistant Professor, Department of Immunology, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

⁴ Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

(Received March 14, 2016 Accepted December 19, 2016)

Abstract

Background and purpose: Nerve growth factor (NGF), as neurotrophin, has a role in response of hypothalamic-pituitary-adrenal axis to stress. In this study, we investigated the role of NGF by inhibiting nerve growth factor anxiety-like behaviors induced by forced swim stress in rats.

Materials and methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats (200-250 g) were randomly divided into four groups (Control group: vehicle group and treatment groups: 10, 50 and 100 μ M of AVG 879 tyrphostin). Intraventricular injection of vehicle and AVG 879 is exerted before force swim stress. Morris water Maze was used to investigate anxiety levels. Data was analyzed by STATISTICA V 5.5 using ANOVA test.

Results: The duration time in closing arm reduced in the group that received AG-879 at low concentrations (10 and 50 μ M) ($P < 0.05$), while it increased in the group that received Tyrphostin at 100 μ M ($P < 0.05$). Also, the time duration in the open arm significantly increased in rats that had AG-879 at 10 and 50 μ M, but at 100 μ M of the drug this parameter decreased ($P < 0.05$).

Conclusion: Exposure to stress increased anxiety-related behavior. Compared with the control group, anxiety-like behaviors reduced in the groups that received nerve growth factor inhibitor.

Keywords: nerve growth factor inhibitor, forced swim stress, anxiety-like behaviors, elevated plus maze

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (145): 186-198 (Persian).

اثر مهارکننده فاکتور رشد عصب ناشی از استرس بر رفتارهای اضطرابی در موش صحرایی

حسن اژدری زرمهری¹

حسین خسروی²

احسان محبی³

محمد شفیع مجددی⁴

محمد محمدزاده⁴

چکیده

سابقه و هدف: فاکتور رشد عصبی (Nerve growth factor NGF)، به عنوان نوروتروفین، در پاسخ محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال به استرس نقش دارد. در این مطالعه نقش tyrphostin AG 879 (آنتاگونیست NGF) بر اثر استرس ناشی از شنای اجباری بر رفتارهای اضطرابی در موش صحرایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی، تعداد 24 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (200-250 گرم) به چهار گروه (کنترل: حلال دارو، گروه های درمانی: 3 دوز 10، 50 و 100 میکرومولار tyrphostin AG 879) به صورت تصادفی تقسیم شدند. تزریق داخل بطنی (بطن جانبی) حلال و دارو قبل از استرس شنای اجباری انجام شد. از ماز به علاوه ای شکل برای بررسی رفتارهای اضطرابی استفاده شد و داده‌ها توسط نرم افزار STATISTICA V5.5 و تست ANOVA آنالیز شد.

یافته‌ها: AG-879 در غلظت پایین (10 و 50 میکرومولار) مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته را نسبت به گروه کنترل کاهش داد ($p < 0/05$) و در غلظت بالا (100 میکرومولار) مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز را افزایش داد ($p < 0/05$). همچنین AG-879 در غلظت پایین (10 و 50 میکرومولار)، مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز را افزایش داد ($p < 0/05$)، و در غلظت بالا (100 میکرومولار) این کمیت را افزایش داد ($p < 0/05$).

استنتاج: مواجهه با استرس، رفتارهای شبه اضطرابی را افزایش داد. نتایج حاکی از کاهش اضطراب در گروه دریافت کننده AG-879 نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

واژه های کلیدی: مهارکننده فاکتور رشد عصب، استرس شنای اجباری، رفتارهای اضطرابی، ماز به علاوه ای

مقدمه

آن بر هورمون‌ها در طول زندگی، جانور را برای مقابله با اثر عوامل محیطی داخلی و خارجی در هر مرحله از رشد و نمو آماده می‌کنند (5,4). کورتیزول به عنوان نماد مستقیم فعالیت HPA، اصلی ترین گلوکو کورتیکوئیدی است که بخش قشری آدرنال ترشح می‌کند و در تنظیم

پاسخ به استرس، تحت تاثیر فعالیت سیستم های مختلفی از جمله محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (Hypothalamo- pituitary-adrenal, HPA) است (1-3). محور HPA یک سیستم فیزیولوژیکی است که در مقابل محرک تنش زا، نقش عمده ای ایفا می‌کند و اثر تنظیمی

E-mail: mohamad1353@gmail.com

مؤلف مسئول: محمد محمدزاده - سبزواری: دانشگاه علوم پزشکی سبزواری، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی

1. استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

2. دانشجوی علوم آزمایشگاهی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی سبزواری، سبزواری، ایران

3. استادیار، گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزواری، سبزواری، ایران

4. دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزواری، سبزواری، ایران

تاریخ دریافت: 1394/12/24 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1395/1/25 تاریخ تصویب: 1395/9/29

استرس شنای اجباری بر کورتیزول و رفتارهای اضطرابی در موش صحرایی پرداخته شد. یکی از تست‌های سنجش اضطراب و افسردگی، استرسور شنای اجباری است (18). از آنجایی که به دنبال این نوع استرس، اضطراب و افسردگی ایجاد می‌شود و ماز به علاوه‌ای شکل مخصوص سنجش میزان اضطراب موش‌های صحرایی است (19)، از این نوع روش تحقیقاتی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، 24 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 200-250 گرم از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار تهیه شدند. تمامی حیوانات در دمای حدود $22 \pm 2^\circ\text{C}$ و در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی نگهداری شدند. در تمام مدت، حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. پس از طی یک دوره 3 روزه دست آموز کردن حیوانات، چهار گروه به صورت تصادفی انتخاب شدند: 1) گروه شنای اجباری + حلال داروی مهارکننده فاکتور رشد عصب (گروه کنترل)، 2) گروه شنای اجباری + دوز 10 میکرومولار AG 879 (Tocris Bioscience, Bristol, United Kingdom) داخل بطن مغزی، 3) گروه شنای اجباری + دوز 50 میکرومولار AG 879 داخل بطن مغزی و 4) گروه شنای اجباری + دوز 100 میکرومولار AG 879 داخل بطن مغزی. رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی در هنگام کار با حیوان صورت می‌گرفت.

روش جراحی

پس استریل کردن وسایل جراحی، حیوان توسط کامین (50mg/kg، داخل صفاقی) و زایلوزین (10mg/kg) بیهوش شد. سپس حیوان را در دستگاه استریوتاکس قرار داده و پس از ثابت کردن سر حیوان و بتادینه کردن پوست سر، برشی در خط وسط با تیغ جراحی داده شد.

گلوکز خون نقش دارد (7,6). گلوکز کورتیکوئیدها برای تکامل طبیعی مغز ضروری هستند، اما اگر مغز جنین در معرض میزان زیادی گلوکز کورتیکوئید قرار بگیرد، می‌تواند تأثیرات شگرفی بر عملکرد طبیعی نورواندوکرین داشته باشد (9,8). گزارش‌های زیادی نشان داده که نوروتروفین‌های سیستم عصبی مرکزی نقش ویژه‌ای را در پاسخ به فعالیت محور HPA و استرس بر عهده دارند. نوروتروفین‌ها، خانواده‌ای از پروتئین‌ها هستند که موجب بقا و تکامل و حفظ عملکرد طبیعی نورون‌ها می‌شوند (11,10). مقادیر چشمگیری از این پروتئین در سیستم اعصاب محیطی، سلول‌های اپی‌تلیال و شوان یافت می‌شود (13,12). مقدار بالای NGF (Nerve growth factor) نه تنها ترمیم را تسریع می‌کند، بلکه سبب توقف استتال عصب نیز می‌گردد (14). این فاکتور نمی‌تواند از سد خونی - مغزی عبور کند (15). این پروتئین به طور گسترده‌ای به عنوان یک فاکتور تروفیک ضروری در ابقای گیرنده‌های درد و به تأخیر انداختن مرگ سلول‌ها شناخته شده است (16). NGF در پاسخ محور HPA به استرس نقش دارد و آسیب نورون‌های کولینرژیک را کاهش می‌دهد. کاهش مقدار NGF بر اثر استرس می‌تواند نتایج زیان‌آوری برای بقای نورون‌های کولینرژیک داشته باشد (9). از آنجایی که NGF ترمیم را تسریع می‌کند و سبب توقف استتال عصب نیز می‌شود، این پروتئین به عنوان یک فاکتور تروفیک ضروری در ابقای گیرنده‌های درد و به تأخیر انداختن مرگ سلول‌ها شناخته شده است و بیان این فاکتور ارتباط نزدیکی با غلظت کورتیزول دارد (17). هم‌چنین در شرایط استرس مزمن، محور HPA دچار اختلال می‌شود و ممکن است NGF در شرایط استرس در محور HPA بر غلظت کورتیزول و رفتارهای شبه اضطرابی تأثیرگذار باشد. اما در رابطه با اثر این فاکتور بر غلظت کورتیزول و رفتارهای اضطرابی، گزارش مشخصی وجود ندارد. لذا در این مطالعه به بررسی نقش AG 879 (به عنوان مهارکننده فاکتور رشد عصب) بر اثر بخشی

پس از آشکار شدن کامل سطح استخوان جمجمه و تمیز کردن آن با الک، موقعیت بطن جانبی روی استخوان جمجمه مشخص شد و بعد از سوراخ کردن آن نقطه در سمت راست نیمکره مغز کانول راهنما قرار داده شد (بر حسب میلی متر: $L = +1.5$, $AP = -0.9$, $V = 3.2$ نسبت به سطح کورتکس). برای بهبودی زخم‌ها و بهبودی کامل، 10 روز به حیوان استراحت داده شد.

تزریق دارو: برای تزریق AG879 به داخل بطن جانبی مغز با غلظت 10، 50 و 100 میکرومولار، در مایع مغزی-نخاعی مصنوعی (حلال دارو) حل می‌شدند. مواد تشکیل‌دهنده حلال دارو عبارت بود از: KCl (3mM)، $MgSO_4$ (2mM)، $NaCl$ (114mM)، $NaHCO_3$ ، $CaCl_2$ (1mM)، NaH_2PO_4 (1.25mM) (26 mM) و Glucose (10mM). هنگام تهیه حلال دارو، گلوکز و $NaHCO_3$ مدت کوتاهی قبل از تزریق دارو به محلول فوق اضافه شدند. برای تهیه دوزهای مختلف دارو، ابتدا مقدار مورد نیاز از دارو وزن شد، در حجم معینی از حلال دارو حل گردید و سپس با استفاده از pH متر و یک نرمال، pH محلول در حد 7/2-7/4 تنظیم شد. از آن جایی که AG879 در آب به خوبی حل نمی‌شود، بنابراین در حجم بسیار کمی از DMSO 0/1 درصد حل شد و سپس برای تهیه دوز مشخص در حجم معینی از حلال دارو حل گردید. دارو یا حلال (یک میکرولیتر) توسط سرنگ هاملتون و دستگاه تزریق (1 μ l/min) به داخل بطن جانبی تزریق شد. تزریق حلال یا دارو پنج دقیقه بعد استرس شنای اجباری (برای 4 روز) به مدت شش دقیقه و در روز چهارم پس از شنای اجباری (5 دقیقه) آزمون اضطراب به مدت پنج دقیقه انجام شد. بیست دقیقه بعد از تست ماز مرتفع، مغز حیوانات برای سنجش کورتیکوسترون بیرون آورده شد.

استرس شنای اجباری

به منظور پرهیز از تغییرات داده‌ها ناشی از ریتم‌های شبانه‌روزی به ویژه در مورد فعالیت محور (HPA) تمام

جلسات استرس در ساعت 10 تا 12 صبح و به صورت یک مرتبه در هر روز انجام شد. به طور خلاصه هر حیوان به طور انفرادی در یک مخزن استوانه‌ای به ابعاد 50 سانتی متر ارتفاع و 35 سانتی متر قطر که حاوی 40 سانتی متر آب $20 \pm 3^\circ C$ بود، برای 6 دقیقه وادار به شنای اجباری شد. پس از خاتمه، حیوان با حوله خشک شده و مورد سنجش‌های بعدی قرار گرفت (استرس شنای اجباری به مدت 4 روز به عنوان استرس مکرر در نظر گرفته شد) (18-21).

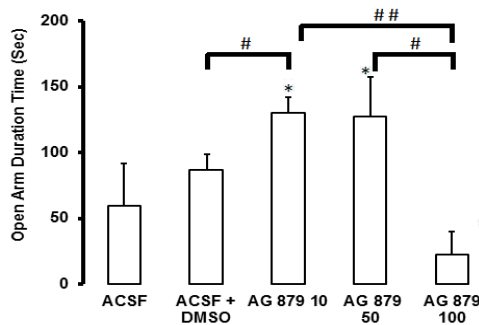
ماز بعلاوه ای شکل مرتفع

دستگاه ماز به علاوهای شکل مرتفع از جنس پلاستیک با 80 سانتی متر ارتفاع از سطح زمین است. این دستگاه دو بازوی باز (50 x 10) و دو بازوی بسته (50 x 10 x 50) دارد. در زمان انجام تست (5 دقیقه)، مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و بسته و تعداد دفعات ورود به این بازوها اندازه‌گیری شد. معیار ورود به بازوها، وجود هر چهار اندام در آن بازو بود (22). برای سنجش اضطراب، سی دقیقه بعد از اعمال استرس شنای اجباری، حیوان در ماز قرار می‌گرفت. موش در بازوی باز و رو به قسمت باز قرار داده می‌شد و به مدت پنج دقیقه رفتار حیوان ثبت و ضبط می‌شد. افزایش زمان سپری شده در بازوی باز نسبت به بازوی بسته نشان از زیاد بودن اضطراب در حیوان است.

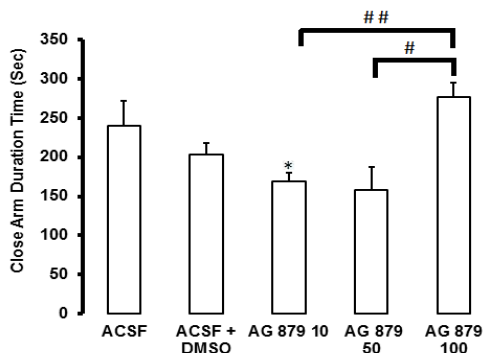
اندازه‌گیری غلظت هورمون کورتیکوسترون سرم

توسط لوله‌های هماتوکریت، 500 میکرولیتر خون از سینوس دور چشم موش گرفته شد. برای این منظور ده دقیقه پس از انجام تست ماز به علاوهای شکل، حیوانات با CO_2 بیهوش شدند و خون گرفته شد (23). نمونه‌ها به مدت 15 دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری و سپس سانتریفوژ شد (بیست دقیقه در 1000xg). سرم جدا شده تا زمان اندازه‌گیری در دمای 80- درجه سانتی گراد نگهداری شد. سطح پلاسمایی کورتیکوسترون

معنی داری افزایش یافته است، در حالی که در گروه دریافت کننده AG-879 در غلظت بالا (100 میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است؛ این نتایج حاکی از کاهش اضطراب طبق دو فاکتور بازوی باز و بسته در گروه دریافت کننده AG-879 نسبت به گروه کنترل می باشد (نمودار شماره 1 و 2).



نمودار شماره 1: اثر مواجهه با استرس شنا و تزریق داخل بطنی AG-879 و حلال بر مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز در تست elevated plus maze. مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز در گروه دریافت کننده AG-879 در غلظت پایین (10 و 50 میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته است، در حالی که در گروه دریافت کننده AG-879 در غلظت بالا (100 میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است. اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$)** نسبت به گروه کنترل و اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) (#) ($p < 0/01$) (##) بین گروه ها می باشد.



نمودار شماره 2: اثر مواجهه با استرس شنا و تزریق داخل بطنی AG-879 بر مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته در تست elevated plus maze. * گروه دریافت کننده AG-879 کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشت و هم چنین ورود به بازوی

بازوهای رادیوایمونواسی و با استفاده از کیت مربوطه برای موش صحرایی (RG International, Inc. USA) انجام گرفت.

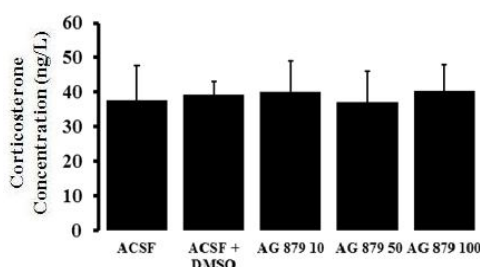
تجزیه و تحلیل داده ها

داده های مربوط به سطح سرمی کورتیکوسترون بر حسب میانگین $\pm$ انحراف از استاندارد بیان شد و مقایسه این کمیت توسط آزمون t -غیر زوجی در رابطه با داده های مربوط به ماز بعلاوه ای شکل، مقایسه زمان حضور در بازوها بر حسب میانگین $\pm$ انحراف از استاندارد توسط ANOVA یک طرفه و تعداد دفعات توسط آزمون Mann-Whitney انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها توسط برنامه Statistica (V 5.5) انجام گرفت.

یافته ها

تجزیه و تحلیل آماری در مورد کمیت "مدت زمان حضور در بازوی بسته" (توسط آنالیز واریانس یک طرفه) نشان داد که گروه دریافت کننده AG-879 کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشت ($F_{(4, 20)} = 3.109$, $p = 0/03$) برای تعداد ورود به بازوی باز در گروه دریافت کننده AG-879 و حلال تفاوت معنی داری داشت ($p = 0/02$) ($F_{(4, 20)} = 3/471$). هم چنین ورود به بازوی بسته در گروه دریافت کننده AG-879 و کنترل تفاوت معنی داری داشت ($F_{(4, 20)} = 5/373$, $p = 0/003$). در تست تعقیبی نتایج نشان داد مدت زمان باقی ماندن در بازوی بسته در گروه دریافت کننده AG-879 در غلظت پایین (10 و 50 میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است، در حالی که در گروه دریافت کننده AG-879 در غلظت بالا (100 میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته است، این در حالی است که مدت زمان باقی ماندن در بازوی باز در گروه دریافت کننده AG-879 در غلظت پایین (10 و 50 میکرومولار) نسبت به گروه کنترل به طور

مواجهه با استرس شنا و مصرف AG-879 بر سطح کورتیکوسترون سرمی خون تصویر شماره 5، اثر تزریق داخل بطنی AG-879 را قبل از استرس شنای اجباری بر سطح کورتیکوسترون سرمی خون در موش های صحرایی را نشان می دهد. AG-879 تغییر معنی دار در سطح کورتیکوسترون پلاسمایی ایجاد نکرده است.



نمودار شماره 5: اندازه گیری سطح کورتیکوسترون سرمی خون در موش های به دنبال مواجهه با استرس شنا و تزریق داخل بطنی AG-879. تزریق داخل بطنی AG-879 قبل از استرس شنای اجباری تغییر معنی دار در سطح کورتیکوسترون پلاسمایی ایجاد نکرده است.

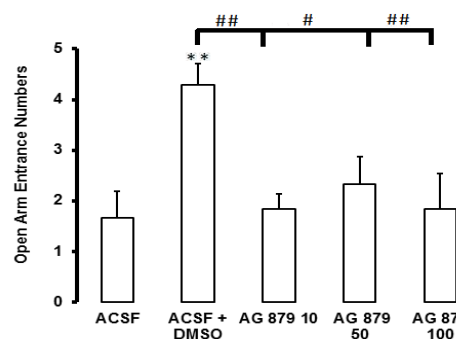
بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که مهار اثر NGF توسط AG879 باعث شد حیوانات زمان بیش تری را در بازوی بسته سپری کنند و تعداد دفعات ورود به بازوی بسته بیش تر شود. در مقابل، تعداد ورود و زمان سپری شده در بازوی باز تحت تأثیر این عامل کاهش می یابد. به بیان دیگر در نبود برخی از اثرات NGF، میزان اضطراب حیوانات بیش تر شده است و زمان بیش تری را در بازوی بسته سپری کرده اند. هم چنین میزان کورتیکوسترون پلاسمایی پس از تزریق داخل بطنی AG879 تغییر معنی داری نیافت.

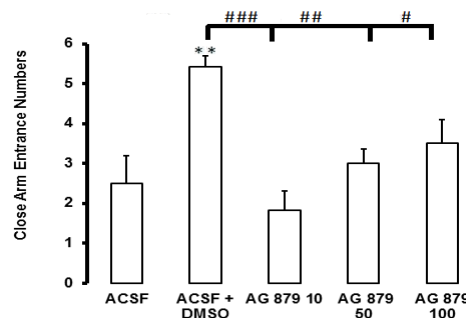
مطالعات زیادی نشان داده که تغییرات غلظت NGF در پاسخ به استرسورهای مختلف در بدن متفاوت است (24). به عنوان مثال آزمایشات نشان داد که غلظت mRNA NGF بعد از استفاده از استرس سرما (cold stress) در نورون های کولینرژیک هیپوکامپ

بسته در گروه دریافت کننده AG-879 و کنترل تفاوت معنی داری داشت. اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) نسبت به گروه کنترل و اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) ($p < 0/01$) بین گروه ها می باشد.

در مورد تعداد ورود به هر بازو، نتایج نشان داد که برای بازوی باز، تفاوت معنی داری بین گروه ها وجود ندارد، اما در مورد بازوی بسته، تعداد دفعات ورود هر سه گروه دریافت کننده AG-879 نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری کاهش داشته است (نمودار شماره 3 و 4).



نمودار شماره 3: اثر مواجهه با استرس شنا و تزریق داخل بطنی AG-879 بر تعداد دفعات ورود به بازوی باز در تست Elevated Plus Maze. اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) نسبت به گروه کنترل و اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) ($p < 0/01$) بین گروه ها می باشد.



نمودار شماره 4: اثر مواجهه با استرس شنا و تزریق داخل بطنی AG-879 بر تعداد دفعات ورود به بازوی بسته در تست Elevated Plus Maze. اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) نسبت به گروه کنترل و اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) ($p < 0/01$) و ($p < 0/001$) بین گروه ها می باشد.

افزایش می‌یابد (25). در حالی که استفاده از شوک استرس بر پا (foot shock stress) غلظت NGF mRNA را در نورون‌های کولینرژیک هیپوکامپ کاهش می‌دهد (22). بنابراین به نظر می‌رسد NGF یک نقش کلیدی را در واسطه‌گری محور HPA در پاسخ به استرس بازی می‌کند (23). تحقیقات قبلی مشخص کرده است که غلظت NGF پیش از افزایش غلظت کورتیزول پلازما و هورمون آدرنوکورتیکوتروپین افزایش پیدا می‌کند (26). در مطالعه انجام شده توسط Enrico و همکاران (1998) مشخص شد که انواع مختلف سلول‌های اندوکرین و سیستم ایمنی، قادر به تولید و ترشح NGF هستند (27). در تحقیق Richthofen و همکاران (2003)، اثر استرس‌های آزمایشگاهی بر سطح NGF بررسی شد. نشان داده شد که این فاکتور برای فعالیت HPA مهم است. میزان NGF در مناطق مختلف مغز در پاسخ به استرس‌های مختلف، به صورت یکسانی تغییر نمی‌کند، به این معنا که در مناطقی کاهش و در مناطقی افزایش مشاهده شده است که به علت ماهیت نوع استرس می‌باشد که در آزمایش به کار برده شده است (28). در تحقیق دیگری در همین راستا روی اثر سن و استرس‌های مختلف بر غلظت NGF مغز موش‌های صحرایی، نشان دادند که تغییرات غلظت NGF در بخش‌های مختلف مغز، به نوع استرس و سن موش‌ها بستگی دارد. اثرات ایجاد شده به وسیله استرس (از طریق محور HPA) در سطح NGF مغز به‌طور کامل مشخص نشده است (29).

در حال حاضر نوروتروفین‌ها (NTS) به عنوان عوامل رشد، نقش مهمی در بقای سلول‌های عصبی، تمایز و همچنین حفظ شکل‌پذیری سیناپسی و توسعه مدارهای نورونی بازی می‌کنند (27، 30). تغییرات در سطوح نوروتروفین‌ها در انواع مختلف استرس و همچنین در مدل‌های حیوانی افسردگی نشان داده شده است. بسیاری از داده‌های موجود نشان می‌دهد که سطوح BDNF در هیپوکامپ و قشر پیشانی در مدل‌های

حیوانی افسردگی و همچنین در خون بیماران مبتلا به افسردگی کاهش یافته است (28). در حال حاضر به خوبی مدارک بر عمل مهارت گلوکوکورتیکوئیدها بر ساخت BDNF در مغز پس از یک مواجهه با عوامل استرس‌زا وجود دارد (31). همراستا با این تحقیق، پژوهش دیگری کاهش سطح و یا کاهش فعالیت فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) با مدل‌های حیوانی افسردگی را نیز نشان می‌دهد (32). با توجه به هیپوتالاموس، در مدل محرومیت از مادران در موش نر و ماده افسرده، تغییرات در BDNF و IGF-1 با تغییرات در تکثیر سلولی و بلوغ همراه بوده است (33). علاوه بر این، کاهش غلظت فاکتور رشد ناشی از استرس در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند مسئول این اختلالات در شکل‌پذیری عصبی و تضعیف زنده ماندن عصبی شود. با این حال، اختلاف زیادی در مورد فاکتور رشد عصبی و به ویژه در مورد NGF وجود دارد. کاهش سطح NGF در هیپوکامپ در برخی از مدل‌های حیوانی افسردگی مشاهده شده است (34-36). با توجه به این عوامل، بسیاری ممکن است مسئول به وجود آوردن اثر استرس بر افسردگی باشند. گلوکوکورتیکوئیدها، هورمون‌های وابسته به غده تیموس و تیروئید و همچنین سیتوکین، سنتز NGF را در مغز تنظیم می‌کند. علاوه بر این، سطح و یا فعالیت این عوامل است که اغلب در افسردگی تغییر کند (37). علاوه بر این، در مقابل دیگر فاکتورهای رشد، NGF در غلظت‌های کم در انسان، موش و مغز موش وجود دارد، در حالی که سطح پیش‌ساز NGF بسیار بالاتر است (38). پیش‌سازهای نوروتروفین‌ها فعال بوده و توسط چند پروتئاز به فرم بالغ تبدیل و سبب فعال کردن فاکتور رشد می‌شوند. با این حال، پیش‌ساز نوروتروفین‌ها نیز فعالیت زیستی نشان می‌دهند، اما اغلب با اشکال بالغ خود متفاوت و گاه متضاد هستند؛ به عنوان مثال، به خوبی نشان داده شده است که عمل M-NGF و فرم پیش‌ساز NGF-، تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارد. پیش‌ساز NGF در درجه اول به

عنوان یک عامل پیش ساز آپوپتوز عمل می کند، در حالی که فرم بالغ این نوروتروفین برای بقا عصبی ضروری است (39، 40). بنابراین، تفاوت در نتایج موجود نیز ممکن است از تعیین هر دو شکل NGF و یا تنها یک شکل به وجود آیند. بلوغ NGF در وهله اول مستلزم کنش اندوپتیداز سرین مانند پلاسمین می باشد که سبب شکافتن پیش ساز NGF به شکل بالغ خود می شود (39، 40).

در مطالعه ای اختلاف بین سطوح M-NGF و رونوشت آن در حیوان در معرض استرس مزمن را کشف کردند. به نظر می رسد که بیان NGF در هیپوتالاموس موش افزایش یافته است. تلاش برای غلبه بر کاهش مقادیر M-NGF است. علاوه بر این، مکانیسم احتمالی که منجر به کاهش فرم بالغ NGF و افزایش میزان پیش ساز NGF می شود را چنین توضیح دادند که پیش ساز NGF، به احتمال زیاد از طریق p75NTR، سبب افزایش آپوپتوز در هیپوتالاموس موش تحت استرس مزمن می شود. این اختلالات تنها در مدل استرس مزمن وجود دارد و هیچ تغییری در NGF در هیپوتالاموس در استرس حاد و یا موش در معرض ترکیبی از هر دو استرس مشاهده نشده است (41).

در مطالعه ای دیگر، استرس رسترنیت سبب کاهش غلظت NGF در هیپوکامپ و هم چنین کاهش در Basal Forebrain شد و در استرس سرما به طور مزمن تغییری در هیپوکامپ ایجاد نشد، اما در صورتی که سرما یک بار اعمال گردید، افزایش قابل توجهی در غلظت Basal Forebrain NGF مشاهده شد و در استرس شوک پا، چه به صورت حاد و چه مزمن، با کاهش NGF در هیپوکامپ و بدون تغییر در Basal Forebrain همراه بود. در نوع حاد استرس، دویدن روی میله دوار کاهش NGF در هیپوکامپ و در استعمال مزمن افزایش در Basal Forebrain را نشان داد (29). در مطالعه ای ارتباط استرس شای اجباری و مقدار سلول های ترشح کننده NGF در مناطق مختلف سیستم لیمبیک

انجام شد. تحت تأثیر شای اجباری حاد و مزمن، مقدار سلول های ترشح کننده NGF در مقایسه با گروه کنترل موش های جوان و مسن تغییر چشمگیری پیدا نکرد (42). در مطالعه ای ارتباط استرس شای اجباری و غلظت گیرنده TrkB در مناطق مختلف هیپوکامپ (CA1 و CA3)، سلول های لایه پیرامیدال و شکنج دنداندار (Dentate Gyrus; DG) سلول های لایه گرانولار) انجام شد. در این مطالعه، غلظت گیرنده TrkB در موش های مسن و جوان در مقایسه با گروه کنترل بدون تغییر باقی ماند. اما در منطقه CA3 هیپوکامپ موش های جوان که تحت تأثیر شای اجباری مزمن بودند، غلظت گیرنده TrkB در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته بود (43). در مطالعه ای دیگر در همین راستا نشان داده شد که مقدار سلول های ترشح کننده NGF و گیرنده TrkA در مناطق مختلف هیپوکامپ انجام شد. در این مطالعه، مقدار سلول های ترشح کننده NGF و گیرنده TrkA تحت تأثیر شای اجباری حاد و مزمن به طور معنی دار تغییر نمی کند (44). مطالعه قبلی نشان داد که مواجهه موش های صحرایی با استرس در دوران بارداری، زمان سپری شده و تعداد ورود به بازوی باز معلاوه ای را در فرزندان نر آن ها افزایش داده و زمان سپری شده در بازوی بسته ماز را کاهش داده است. این امر بیانگر این موضوع است که قرار گرفتن مادر در معرض استرس های ناهمگون در زمان بارداری، رفتارهای اضطرابی را در فرزندان نر آن ها در دوران بلوغ کاهش داده است. موضوع تأثیر شرایط فیزیکی و روانی مادران در دوران بارداری بر سطح اضطراب، پرخاشگری، حافظه و رفتارهای اجتماعی فرزندان در مطالعات مختلف حیوانی و انسانی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج مختلف و متناقضی به دست آمده است (45، 46). Ordian و همکاران با اعمال استرس محدودیت حرکتی در موش های صحرایی حامله در روزهای 15 تا 18 دوران بارداری نشان دادند که در فرزندان ماده، رفتار اضطرابی ایجاد شده و این اثر در موش های صحرایی

آدرنالکتومی که دوز پایین کورتیکواسترون دریافت می‌کنند، دیده نشد. در حالی که اگر به همین موش‌ها دوز بالای این هورمون داده شود، همان اثرات اضطراب زایی در فرزندانشان دیده می‌شود (47).

در مطالعه دیگری، Batuev و همکارانش نشان دادند که اعمال مانع فیزیکی به عنوان استرس در موش‌های صحرایی حامله، موجب افزایش مرده زایی شده است؛ هم‌چنین در یک ماهگی، موجب کاهش لوکوموشن و افزایش سطح اضطراب شد، در حالی که در چهار ماهگی این اثرات معنی‌دار نبوده است (44).

اثر مواجهه با الکل و استرس مزمن توسط Hellemans بررسی شد و بیان شد که این عامل‌ها به طور جداگانه می‌توانند تولید رفتارهای اضطرابی و افسردگی نمایند. موش‌های صحرایی نر، بیش‌تر رفتارهای بیش‌فعالی لوکوموتور و موش‌های صحرایی ماده، بیش‌تر رفتار اضطرابی نشان دادند (48) که تایید می‌کند بروز رفتارهای اضطرابی، وابسته به جنس می‌باشد که تاییدکننده نتایج این مطالعه می‌باشد.

Fride و همکارانش نشان دادند که استرس دوران بارداری باعث افزایش رفتارهای اضطرابی و تغییر در فعالیت دوپامین در مغز می‌شود. این استرس افزایش دوپامین در ناحیه پره فرونتال راست و کاهش در ناحیه هسته اکومبنس راست و استریاتوم چپ را به همراه داشت (49).

در ضمن در خصوص دلایل احتمالی تفاوت معنی‌دار گروه حلال با گروه‌های مورد و شاهد توضیح

داده شد که دی‌متیل سولفو کساید به عنوان یک حلال برای داروهای غیر قطبی و نامحلول در آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، دی‌متیل سولفو کساید دارای اثرات سلولی وسیعی است که می‌تواند با اثر بسیاری از داروها تداخل ایجاد کند (47). دی‌متیل سولفو کساید هنگامی که در کشت سلولی مورد مطالعه قرار گرفت، سبب افزایش تحریک‌پذیری سلول از طریق افزایش جریان کانال کلسیم، سدیم و یا کلر شده است. اثرات رفتاری دی‌متیل سولفو کساید نیز گزارش شده است (50). به عنوان مثال تزریق داخل صفاقی و خوراکی دی‌متیل سولفو کساید موجب بی‌دردی در موش‌های صحرایی می‌شود. تجویز همزمان دی‌متیل سولفو کساید، تمایل به افزایش اثرات داروهای دیگر دارد؛ به عنوان مثال، تجویز همزمان با مورفین می‌تواند اثرات ضد‌دردی مورفین را افزایش دهد (48). اثر ضد التهابی دی‌متیل سولفو کساید در حفاظت از سلول‌های عصبی بعد از سکت‌های مغزی مفید است و هم‌چنین می‌توان از آن در درمان بیماری‌های التهابی مختلف استفاده کرد (49).

مواجهه با استرس، رفتارهای شبه اضطرابی را افزایش داد. نتایج حاکی از کاهش اضطراب در گروه دریافت‌کننده AG-879 نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار می‌باشد.

References

1. Akerfelt M, Trouillet D, Mezger V, Sistonen L. Heat shock factors at a crossroad between stress and development. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1113: 15-27.
2. Roozendaal B, McGaugh JL. Glucocorticoid Receptor Agonist and Antagonist Administration into the Basolateral but Not Central Amygdala Modulates Memory Storage. *Neurobiol Learn Mem* 1997; 67(2): 176-179.
3. Selye H. The effect of adaptation to various damaging agents on the female sex organs in the rat. *Endocrinology* 1993; 25(4): 615-624.

4. McCormick CM, Mathews IZ. HPA function in adolescence: role of sex hormones in its regulation and the enduring consequences of exposure to stressors. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 86(2): 220-233.
5. Rohleder N, Schommer NC, Hellhammer DH, Engel R, Kirschbaum C. Sex differences in glucocorticoid sensitivity of proinflammatory cytokine production after psychosocial stress. *Psychosom Med* 2001; 63(6): 966-972.
6. del Corral P, Mahon AD, Duncan GE, Howe CA, Craig BW. The effect of exercise on serum and salivary cortisol in male children. *Med Sci Sports Exerc* 1994; 26(11): 1297-1301.
7. Dorian B, Garfinkel P, Brown G, Shore A, Gladman D, Keystone E. Aberrations in lymphocyte subpopulations and function during psychological stress. *Clin Exp Immunol* 1982; 50(1): 132-138.
8. Jesse C, Donato F, Giacomeli R, Del Fabbro L, da Silva Antunes M, de Gomes M, et al. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na⁺, K⁺-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: Antidepressant effect of chrysin. *Neuroscience* 2015; 289: 367-380.
9. Kapoor A, Dunn E, Kostaki A, Marcus HA, Stephen GM. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids. *J physiol* 2006; 572(1): 31-44.
10. Fereidoni M, Javan M, Semnani S, Ahmadiani A. Chronic forced swim stress inhibits ultra-low dose morphine-induced hyperalgesia in rats. *Behav Pharmacol* 2007; 18(7): 667-672.
11. Levi-Montalcini R1, Skaper SD, Dal Toso R, Petrelli L, Leon A. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokin. *Trends Neurosci* 1996; 19(11): 514-520.
12. Seniuk NA. Neurotrophic factors: Role in peripheral neuron survival and axonal repair. *J Reconst Microsug* 1992; 8(5): 399-404.
13. Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R, Lindholm D, Meyer M, Rohrer H. Nerve growth factor: Cellular localization and regulation of synthesis. *Cell Mol Neurobiol* 1988; 8(1): 35-40.
14. Tsai CC, Lu MC, Chen YS, Wu CH, Lin CC. Locally administered nerve growth factor suppresses ginsenoside R_{b1}-enhanced peripheral nerve regeneration. *Am J Chin Med* 2003; 31(5): 665-673.
15. Freed W. The role of nerve- growth factor (NGF) in the central nervous system. *Brain Res Bull* 1976; 1(4): 393-412.
16. Petruska J, Mendell L. The many functions of nerve growth factor: multiple actions on nociceptors. *Neurosci Lett* 2004; 361(1-3): 168-171.
17. Shamsizadeh A, Soliemani N, Mohammad-Zadeh M. Permanent lesion in rostral ventromedial medulla potentiates swim stress-induced analgesia in formalin test. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17(3): 209-215.
18. Yan HC, Cao X, Das M, Zhu XH, Gao TM. Behavioral animal models of depression. *Neurosci Bull* 2010; 26(4): 327-337.
19. Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54(1): 21-30.
20. Sofi Abadi M, Heidari N, Ghasemi E, Esmaeili MH. Assessment of orexin receptor 1 in stress attenuated nociceptive behaviours in formalin test. *Physiol Pharmacol* 2011; 15(3): 395-402.
21. Soleimani N, Erami E, Abbasnejad M, Shamsizadeh A, Azhdari-Zarmehri H. Effect of transient inactivation of rostral ventromedial medulla on swim stress-induced

- analgesia in formalin test in rats Neda. *Physiol Pharmacol* 2013; 17(1): 116-124.
22. Ide S, Sora I, Ikeda K, Minami M, Uhl GR, Ishihara K. Reduced emotional and corticosterone responses to stress in mu-opioid receptor knockout mice. *Neuropharmacology* 2010; 58(1): 241-247.
 23. Zanca RM, Braren SH, Maloney B, Schrott LM, Luine VN, Serrano PA. Environmental Enrichment Increases Glucocorticoid Receptors and Decreases GluA2 and Protein Kinase M Zeta (PKMzeta) Trafficking During Chronic Stress: A Protective Mechanism? *Front Behav Neurosci* 2015; 9: 303.
 24. Mohammad-Zadeh M, Azhdari-Zarmehri H, Mosavi F, Haghdost-Yazdi H, Nazeri M, Shabani M. Modulation of different phases of formalin test by force swim stress. *BCN* 2014; 5(4): 303-307.
 25. Andrews MH, Kostaki A, Setiawan E, McCabe L, Owen D, Banjanin S, et al. Developmental regulation of the 5-HT7 serotonin receptor and transcription factor NGFI-A in the fetal guinea-pig limbic system: influence of GCs. *J Physiol* 2004; 555(3): 659-670.
 26. Hadjiconstantinou M, McGuire L, Duchemin AM, Laskowski B, Kiecolt-Glaser J, Glaser R. Changes in plasma nerve growth factor levels in older adults associated with chronic stress. *J Neuroimmunol* 2001; 166(1): 102-106.
 27. Alleva E, Petrucci S, Cirulli F, Aloe L. NGF regulatory role in stress and coping of rodents and humans. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54(1): 65-72.
 28. Von Richthofen S, Lang U, Hellweg R. Effects of different kinds of acute stress on nerve growth factor content in rat brain. *Brain Res* 2003; 987(2): 207-213.
 29. Plotsky PM, Cunningham ET Jr, Widmaier EP. Catechola minergic modulation of corticotrophin-releasing factor and adreno corticotropin secretion. *Endocr Rev* 1989; 10(4): 437-458.
 30. Aloe L, Bracci-Laudiero L, Alleva E, Lambiase A, Micera A, Tirassa P. Emotional stress induced by parachute jumping enhances blood nerve growth factor levels and the distribution of nerve growth factor receptors in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(22): 10445-10449.
 31. Scaccianoce S, Lombardo K, Angelucci L. Nerve growth factor brain concentration and stress: changes depend on type of stressor and age. *Int J Dev Neurosci* 2000; 18(4-5): 469-479.
 32. Allard S, Leon WC, Pakavathkumar P, Bruno MA, Ribeiro-da-Silva A, Cuello AC. Impact of the NGF maturation and degradation pathway on the cortical cholinergic system phenotype. *J Neurosci* 2012; 32(6): 2002-2012.
 33. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev* 2000; 14(23): 2919-2937.
 34. Basta-Kaim A, Szczesny E, Glombik K, Stachowicz K, Slusarczyk J, Nalepa I, et al. Prenatal stress affects insulin-like growth factor-1 (IGF-1) level and IGF-1 receptor phosphorylation in the brain of adult rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 2014; 24(9): 1546-1556.
 35. Chen YW, Lin PY, Tu KY, Cheng YS, Wu CK, Tseng PT. Significantly lower nerve growth factor levels in patients with major depressive disorder than in healthy subjects: a meta-analysis and systematic review. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2015; 11: 925-933.

36. Filho CB, Jesse CR, Donato F, Giacomeli R, Del Fabbro L, da Silva Antunes M, et al. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na(+), K(+)-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: antidepressant effect of chrysin. *Neuroscience* 2015; 289: 367-380.
37. Viveros MP, Díaz F, Mateos B, Rodríguez N, Chowen JA. Maternal deprivation induces a rapid decline in circulating leptin levels and sexually dimorphic modifications in hypothalamic trophic factors and cell turnover. *Horm Behav* 2010; 57(4-5): 405-414.
38. Angelucci F, Aloe L, Jiménez-Vasquez P, Mathé AA. Electroconvulsive stimuli alter nerve growth factor but not brain-derived neurotrophic factor concentrations in brains of a rat model of depression. *Neuropeptides* 2003; 37(1): 51-56.
39. Aloe L, Alleva E, Fiore M. Stress and nerve growth factor: findings in animal models and humans. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 73(1): 159-166.
40. Della FP, Abelaira HM, Réus GZ, Santos MA, Tomaz DB, Antunes AR, et al. Treatment with tianeptine induces antidepressive-like effects and alters the neurotrophin levels, mitochondrial respiratory chain and cycle Krebs enzymes in the brain of maternally deprived adult rats. *Metab Brain Dis* 2013; 28(1): 93-105.
41. Bruno MA, Cuello AC. Activity-dependent release of precursor nerve growth factor, conversion to mature nerve growth factor, and its degradation by a protease cascade *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(17): 6735-6740.
42. Lee FS, Kim AH, Khursigara G, Chao MV. The uniqueness of being a neurotrophin receptor. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11(3): 281-286.
43. Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL. Hempstead, Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 2001; 294(5548): 1945-1948.
44. Szalewska E, Spodnik J, Klejbor I, Ludkiewicz B, Morys J. Do two models of acute and chronic stress stimulation influence the amount of nerve growth factor (NGF) and its receptor TrkA in the hippocampal neurons of middle aged rats? *Brain Res* 2011; 1384: 97-109.
45. Szalewska E, Klejbor I, Cecot T, Spodnik J, Morys J. Changes in NGF/c-Fos double staining in the structures of the limbic system in juvenile and aged rats exposed to forced swim test. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2009; 69(4): 448-458.
46. Kucharczyk M, Kurek A, Detka J, Slusarczyk J, Papp M, Tota K, et al. Chronic mild stress influences nerve growth factor through a matrix metalloproteinase-dependent mechanism. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 66: 11-21.
47. Ordian N, Pivina S. Maternal glucocorticoid hormones as a factor mediating the effect of prenatal stress on offspring anxiety. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 2002; 53(6): 781-783.
48. Hellems KG, Verma P, Yoon E, Yu WK, Young AH, Weinberg J. Prenatal alcohol exposure and chronic mild stress differentially alter depressive- and anxiety-like behaviors in male and female offspring. *Alcohol Clin Exp Res* 2010; 34(4): 633-645.
49. Fride E, Weinstock M. Prenatal stress increases anxiety related behavior and alters cerebral lateralization of dopamine activity. *Life Sci* 1988; 42(10): 1059-1065.

50. Batuev A, Vinogradova E, Poliakova O. The effect of stress in pregnant rats on the anxiety level in their offspring. Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova 1995; 46(3): 558-563.